

อ้อยนภา แซ่ลิ้ม : การพัฒนาระบบการผลิต Conjugated Linoleic Acid (CLA) ต้นแบบ
ด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติก (DEVELOPMENT OF CONJUGATED LINOLEIC
ACID (CLA) PRODUCTION MODEL USING LACTIC ACID BACTERIA)

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มาโนชญ์ สุธีรพัฒนานนท์, 101 หน้า.

Conjugated Linoleic Acid (CLA) คือ กลุ่มของกรดไขมันที่มีลักษณะรูปร่าง และโครงสร้าง เป็นไอโซเมอร์ของกรดไขมันลิโนเลอิก สามารถผลิตได้จากแบคทีเรียหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง แบคทีเรียกรดแล็กติก จากการทดสอบความสามารถของ *Lactobacillus acidophilus* TISTR1338, *Lactococcus lactis* TISTR1401 และแบคทีเรียกรดแล็กติกอีกจำนวน 17 ไอโซเลท ในการผลิต CLA จากน้ำมันที่มีกรดไขมันลิโนเลอิกปริมาณสูง เช่น น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลืองใน อาหารเหลว MRS และ Modified MRS พบว่า แบคทีเรียที่ทดสอบทั้งหมดสามารถสร้าง CLA ได้สูง เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว Modified MRS ซึ่งแบคทีเรีย N25-7, N25-19 และ TISTR1401 สามารถ สร้าง CLA ทั้งหมด และไอโซเมอร์เฉพาะได้สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งไอโซเมอร์ *cis*-9, *trans*-11-18:2 และ *trans*-10, *cis*-12-18:2 ดังนั้นจึงเลือกมาตรวจสอบปัจจัยการผลิต CLA ที่เหมาะสม โดยทดสอบ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Modified MRS ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากการตรวจสอบผลของขนาดหยคน้ำมัน พบว่าไม่มีผลต่อปริมาณการสร้าง CLA ทางสถิติ ส่วนความเข้มข้นของน้ำมันที่เหมาะสมในการสร้าง CLA ของแบคทีเรียที่ทดสอบคือ 0.1 มิลลิกรัม ต่อ มิลลิลิตร สำหรับความความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น, อุณหภูมิบ่ม และปริมาณ กล้าเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการสร้าง CLA จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ ทดสอบ เมื่อทดสอบผลของการใช้กล้าเชื้อผสมต่อปริมาณการสร้าง CLA จากน้ำมันดอกทานตะวัน พบว่า การผสมแบคทีเรีย N25-19 และ TISTR1401 จะทำให้เกิดการสร้าง CLA สูงที่สุดอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉลี่ย 64.48 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมไขมัน โดยมี CLA1 และ CLA2 ปริมาณ 26.66 และ 37.82 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมไขมัน ตามลำดับ ส่วนการใช้กล้าเชื้อเดี่ยว พบว่า TISTR1401 มีการสร้าง CLA สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 57.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ไขมัน โดยมี CLA1 และ CLA2 ปริมาณ 23.98 และ 33.71 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมไขมัน ตามลำดับ นำแบคทีเรีย TISTR1401 มาศึกษาการผลิต CLA ในแต่ละช่วงเวลาในถังหมักปริมาตร 5 ลิตร ทำ การเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่เหมาะสม เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยใช้อาหารเหลว Modified MRS ที่มีน้ำมัน ดอกทานตะวันหรือน้ำมันถั่วเหลืองเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบการผลิต CLA จากน้ำมัน ดอกทานตะวันสูงที่สุดที่ระยะเวลาบ่ม 24 ชั่วโมง ปริมาณ 69.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมไขมัน ประกอบด้วย CLA1 และ CLA2 ปริมาณ 33.51 และ 36.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมไขมัน ตามลำดับ ส่วนการผลิต CLA จากน้ำมันถั่วเหลือง พบปริมาณการผลิตสูงที่สุดที่ระยะเวลาบ่ม 48 ชั่วโมง

ปริมาณ 61.28 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมน้ำมัน โดยจะมีการผลิต CLA1 และ CLA2 ปริมาณ 34.51 และ 26.77 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมน้ำมัน ตามลำดับ

OINAPHA SAE-LIM : DEVELOPMENT OF CONJUGATED LINOLEIC ACID
(CLA) PRODUCTION MODEL USING LACTIC ACID BACTERIA. THESIS
ADVISOR : ASST. PROF. MANOTE SUTHEERAWATTANANONDA,
Ph.D., 101 PP.

CONJUGATED LINOLEIC ACID/LACTIC ACID BACTERIA/PRODUCTION/
SUNFLOWER OIL/SOYBEAN OIL

Conjugated linoleic acid (CLA), a group of positional and geometric isomers of linoleic acid with conjugated double bonds, is produced from free linoleic acid by various microorganisms, especially lactic acid bacteria. *Lactobacillus acidophilus* TISTR1338, *Lactococcus lactis* TISTR1401 and seventeen lactic acid bacterial isolates were tested for their ability to produce CLA from high content linoleic acid oils such as sunflower and soybean oils in MRS and modified MRS media. All tested bacteria were able to produce high amount of CLA when cultured in modified MRS medium. The isolates coded N25-7, N25-19 and TISTR1401 showed ability to produce high amount of total and specific isomers of CLA, especially *cis*-9, *trans*-11-18:2 and *trans*-10, *cis*-12-18:2. Therefore, these three bacterial strains were chosen for further investigation and optimization study. To determine the optimal conditions, the bacteria were anaerobically cultured in 50 ml of modified MRS medium for 48 hours. The oil droplet size did not significantly affect CLA production. The optimal concentration of sunflower and soybean oils for CLA production of tested bacteria was 0.1 mg/ml. CLA production optimized at different initial of pH medium, incubation temperature, and inoculum size varied among tested bacterial strains. CLA

production from sunflower oil using mixed starter cultures was tested. The mixture of bacteria N25-19 and TISTR1401 was significantly found to produce the highest amount of CLA in an average of 64.48 $\mu\text{g}/\text{mg}$ oil containing CLA1 and CLA2 of 26.66 and 37.82 $\mu\text{g}/\text{mg}$ oil, respectively. When individual starter culture was used, TISTR1401 significantly showed the highest CLA production of 57.69 $\mu\text{g}/\text{mg}$ oil containing CLA1 and CLA2 of 23.98 and 33.71 $\mu\text{g}/\text{mg}$ oil, respectively. The time course for CLA production of TISTR1401 was observed in a 5-L bioreactor for 72 hours under optimal conditions. Modified MRS broth supplemented with 0.1 mg/ml of sunflower or soybean oils was used. Optimized incubation period of CLA production from sunflower oil (69.95 $\mu\text{g}/\text{mg}$ oil) was 24 hours. The amounts of CLA1 and CLA2 detected during optimum incubation time were 33.51 and 36.44 $\mu\text{g}/\text{mg}$ oil, respectively. CLA production from soybean oil reached a maximum at 48 hours (61.28 $\mu\text{g}/\text{mg}$ oil) producing CLA1 and CLA2 at 34.51 and 26.77 $\mu\text{g}/\text{mg}$ oil, respectively.

School of Food Technology

Academic Year 2009

Student's Signature_____

Advisor's Signature_____